

氏名	田 中 新 二
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 4051 号
学位授与年月日	平成13年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者
学 位 論 文 名	繊維性コラーゲンによるヒト血管平滑筋細胞遊走能の抑制：線溶系を介した調節の関与
論文審査委員	主 査 教 授 西沢 良記 副主査 教 授 大谷 周造 副主査 教 授 森田 隆

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】動脈硬化症の発症、進展においては、血管平滑筋細胞(SMC)の増殖、遊走などの形質変化が深く関与することが知られている。この際、繊維性I型コラーゲン(繊維性CL)などの細胞外マトリックスが深く関与すると想定されている。今回、繊維性CLを用いた三次元培養系における、ヒト血管平滑筋細胞(SMC)の線溶系[urokinase-type plasminogen activator (uPA)およびplasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)]調節とそのSMC遊走に及ぼす影響を検討した。

【方法】三次元培養系におけるSMCのuPA、uPA受容体(uPAR)、PAI-1、インテグリンの発現はELISA法、flow cytometry法、蛍光抗体法により検討し、単体コラーゲンをコートした二次元培養系と比較した。SMC遊走能は、3次元培養後CL、フィブロネクチン、ビトロネクチン、オステオポンチンをコートしたpolycarbonate filter上で、Boyden chamber法により検討した。

【結果】繊維性CL上で24時間培養したSMCは、単体CL上で培養したSMCに比較して、ビトロネクチン、オステオポンチン上の遊走が抑制されていた。この際 $\alpha v \beta 3$ インテグリンの接着班への集積が阻害されていたことから、繊維性CLは $\alpha v \beta 3$ インテグリン機能を抑制し、SMC遊走を阻害したものと考えられた。一方、単体および繊維性CL、フィブロネクチン上のSMC遊走は影響されなかった。繊維性CL上で24時間培養したSMCでは二次元培養に比して、uPAの分泌およびuPARの発現は増加していた。一方PAI-1蛋白の分泌、細胞表面への沈着は抑制され、線溶系は亢進した状態と考えられた。繊維性CLによるビトロネクチン上でのSMC遊走抑制はPAI-1添加により回復し、このPAI-1の作用はuPA同時添加により阻害された。

【結論】繊維性I型コラーゲンは線溶系調節を介して、 $\alpha v \beta 3$ インテグリン依存性の血管平滑筋細胞遊走能を抑制すると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

動脈硬化症の発症、進展においては、血管平滑筋細胞(SMC)の増殖、遊走などの形質変化が深く関与することが知られている。この際、繊維性I型コラーゲン(繊維性CL)などの細胞外マトリックスが深く関与すると想定されている。本研究において、繊維性CLを用いた三次元培養系における、ヒト血管平滑筋細胞(SMC)の線溶系[urokinase-type plasminogen activator (uPA)およびplasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)]調節とそのSMC遊走に及ぼす影響を検討している。

実験方法として、三次元培養系におけるSMCのuPA、uPA受容体(uPAR)、PAI-1、インテグリンの発現はELISA法、flow cytometry法、蛍光抗体法により検討し、単体コラーゲンをコートした二次元培養系と比較している。SMC遊走能は、3次元培養後CL、フィブロネクチン、ビトロネクチン、オステオポンチ

ンをコートしたpolycarbonate filter上で、Boyden chamber法により検討している。

繊維性CL上で24時間培養したSMCは、単体CL上で培養したSMCに比較して、ビトロネクチン、オステオポンチン上の遊走が抑制されていた。この際 $\alpha v \beta 3$ インテグリンの接着斑への集積が阻害されていたことから、繊維性CLは $\alpha v \beta 3$ インテグリン機能を抑制し、SMC遊走を阻害したものと考えられた。一方、単体および繊維性CL、フィブロネクチン上のSMC遊走は影響されなかった。繊維性CL上で24時間培養したSMCでは二次元培養に比して、uPAの分泌およびuPARの発現は増加していた。一方PAI-1蛋白の分泌、細胞表面への沈着は抑制され、線溶系は亢進した状態と考えられた。繊維性CLによるビトロネクチン上でのSMC遊走抑制はPAI-1添加により回復し、このPAI-1の作用はuPA同時添加により阻害された。

結論として繊維性I型コラーゲンは線溶系調節を介して、 $\alpha v \beta 3$ インテグリン依存性の血管平滑筋細胞遊走能を抑制することを示した。

以上の研究は、動脈硬化の病態研究に貢献するものであり、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判定された。